

بررسی خوگیری اکوفیزیولوژیک و قابلیت تعدیل شوری سیانوباکتری خاکزی *Anabaena sp. FS 76* جمع آوری شده از مناطق آلوده نفتی تحت تاثیر تیمار مشترک شوری و محدودیت نور

شادمان شکروی*^۱، الهه کیانی^۲، افسانه پاکزاد^۱، حمیده سادات امیرلطیفی^۲

^۱گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

^۲دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۵

چکیده

مسئله رفع شوری ناشی از استخراج نفت در دهه اخیر یکی از عمده‌ترین مسائل زیست محیطی کشور می‌باشد. روش‌های زیستی در مناطق آلوده به نفت می‌توانند از کارآمدترین روش‌ها محسوب گردند. هدف این مطالعه بررسی توان کاهش شوری توسط سیانوباکتری جدا شده از مناطق آلوده نفتی بود. سیانوباکتری *Anabaena sp. FS 76* از مناطق نفتی جنوب کشور (استان خوزستان) جمع‌آوری شد و در شرایط آزمایشگاهی از نظر خوگیری توام به شوری و نور محدود افراطی، از نظر اکوفیزیولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای شوری شامل محیط فاقد شوری و محیط کشت BG011 واجد کلرید سدیم با مقادیر مختلف (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد) در نظر گرفته شد. سنجش‌ها شامل بررسی بقا و رشد، رنگیزه‌ها (فیکوسیانین، آلفوکوسیانین، فیکواریترین)، قند و پروتئین بود. نتایج نشان داد که بیشینه نرخ رشد در شوری ۱ درصد بود. شوری تا حد ۱ درصد نه تنها سبب کاهش محتوای قند و پروتئین کل نشد بلکه به طور معنی‌داری آن را افزایش داد. طیف‌های جذبی در تنش توام شوری و نور محدود افراطی، وجود سیستم میله ای و مرکزی فیکوبیلی زوم را تایید نمود. قابلیت تعدیل شوری در این سیانوباکتری در شرایط طبیعی وجود دارد. این قابلیت در شوری‌های بالا به‌خصوص ۱ درصد به بالاترین حد رسید. نتایج این تحقیق نشان داد نمونه از نظر فیزیولوژی محیطی و بیوتکنولوژی نمونه‌ای توانمند و قابل توجه جهت بررسی‌های آتی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنابنا، اکوفیزیولوژی محیطی، تعدیل شوری، سیانوباکتری، نفت

مقدمه

بررسی بر روی پشته‌های میکروبی اندک بوده است (Soltani et al., 2012). در محیط‌های خاکی اعم از مناطق نفتی و غیرنفتی، سیانوباکتری‌ها تحت تأثیر مجموعه‌ای از تنش‌ها قرار دارند که شوری و نور از عمده‌ترین آنهاست (Bhadduriya et al., 2007). این امر همراه با دیگر تنش‌ها از جمله دی اکسید کربن، اسیدیته و قلیابیت می‌بایست توسط سیانوباکتری

سیانوباکتری‌های جنوب و از جمله مناطق آلوده به نفت نسبتاً ناشناخته می‌باشند. در بررسی اجتماعات سیانوباکتریایی کشورهای حوزه خلیج فارس، نشان داده شده که آلودگی نفتی در طی این مدت، بر تغییر و تنوع سیانوباکتری‌ها تاثیر داشته است. هرچند

*نویسنده مسئول: shadmanshokravi@yahoo.com

کم اهمیت تر از هدف اصلی، در یک تفکر چند منظوره، با عنایت به مسأله ضرورت استفاده از اصلاحگرهای خاک در آینده مسأله بقاء و رشد در شرایط تنش‌های مختلف، سیانوباکتری‌های استیگوناتال و نوستوکال، به دلیل داشتن هتروسیست و قابلیت تثبیت نیتروژن اتمسفری و نیز مورفولوژی خاص خود که سبب گسترش در خاک و حفظ بافت خاک می‌شود، به‌طور بالقوه، می‌توانند در بیوتکنولوژی کاربردی ریزجلبک‌ها مورد توجه جدی قرار گیرد (Safaie et al., 2015). مجموع این ویژگی‌ها سبب شده است تا بررسی سیانوباکتری‌های استیگوناتال و نوستوکال سوای علوم پایه و بیوتکنولوژی نفت، از نظر بیوتکنولوژی کشاورزی ارزشمند نشان داده شوند (Anand et al., 1990).

سیانوباکتری‌ها از لحاظ ارتباط با نمک متغیرند، انواعی به زندگی در آب دریا سازش پیدا کرده‌اند (Sokravi et al., 2009). اشکال آزاد سیانوباکتری‌ها، اغلب در مکان‌هایی یافت می‌شوند که دامنه شرایط محیطی و از جمله شوری بالا نوسان وجود دارد. علاوه بر رفتارهای فیزیولوژیک، به نظر می‌رسد که مورفولوژی سلول‌ها نیز در پاسخ به شوری تغییر می‌کند. سلول‌های کوچک به صورت منفرد یا جفت در شوری‌های پائین و سلول‌های بزرگ واجد واکنش و گرد در شوری‌های زیاد هستند (Safaie et al., 2015).

نور نقش عمده‌ای در اجتماعات سیانوباکتری خاک‌ها و شالیزارها دارد (Boussiba, 1988). تغییرات نور در هنگامی که پشته‌های میکروبی تشکیل می‌شوند، وجود دارند (Stal., 1995). قرار گرفتن در لایه‌های نازک نفت، همانند غرقابی شدن خاک شالیزارها، سبب کاهش محسوس نور دریافتی توسط اجتماعات می‌گردد. در رابطه با لایه‌های نفتی، بررسی دقیقی انجام نگرفته است. اما به نظر می‌رسد

تحمل شده و منجر به از بین رفتن آنها نگردد (Shokravi et al., 2010). بنابراین نمونه‌ها از نظر هرگونه بهره‌برداری اقتصادی و از جمله بیوتکنولوژی می‌بایست توانمندی‌هایی داشته باشد که تحمل به تغییرات شوری و نور محدود از جمله مهم‌ترین آنهاست (Boussiba, 1988). با توجه به اینکه سیانوباکتری‌ها لایه فوقانی اجتماعات میکروبی را تشکیل می‌دهند، هرگونه تغییر در این لایه، به‌طور مستقیم تعادل ظریف میکروفلور در این پشته‌ها را بر هم می‌زند و عدم تعادل به معنی برهم خوردن ارتباط ظریف میان اجزا و ایجاد الگوهای ارتباطی جدید می‌باشد که الگوهای تهاجمی از جمله آنها می‌باشد (Stal, 1995). نکته با اهمیت دیگر در این خصوص افزایش بی‌رویه شوری در مناطق نفتی است. حفاری در حوضچه‌های نفتی سبب اضافه شدن مقادیر قابل توجهی نمک می‌شود. این نمک معمولاً در مخازنی نگهداری می‌گردد که خود به مرور زمان سبب افزایش قابل توجه شوری محیط و تهدید کشاورزی منطقه می‌گردد. اینکه آیا می‌توان با استفاده از تعدیل کننده‌های زیستی این شوری را کنترل کرد یا خیر به عوامل متعدد بستگی دارد. در حال حاضر بدلیل نبود اطلاعات پایه هرگونه گام عملی می‌تواند توأم با ریسک بالا و عدم اخذ نتیجه یا نتیجه معکوس باشد. تصور می‌شود حداقل یک دهه جمع‌آوری اطلاعات بنیادین و از جمله فیزیولوژی و اکوفیزیولوژی لازم است تا بتوان بر مبنای یک برنامه مدون و قابل اعتماد به بررسی‌های عملی دست زد. با این توضیح نشان ویژه‌سازی این موجودات از جنبه‌های مختلف و از جمله فیزیولوژی، اکوفیزیولوژی می‌تواند راه‌گشای بهره‌برداری‌های کاربردی آتی باشد. با توجه به اینکه نفت در اقتصاد ایران، جایگاه خاصی دارد، اینگونه بررسی‌ها، استراتژیک محسوب می‌شود (Chakigar et al., 2012). به‌عنوان هدف فرعی ولی البته نه چندان

روی سیانوباکتریوم متعلق به راسته استیگوناتالز *Fischerella* sp. (Soltani et al., 2007) در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته است. تاثیر توام نور محدود و تنش‌ها، به طور عمده به اسیدیتته و قلیابیت ارتباط داشته است. از جمله Shokravi و همکاران (۲۰۱۰)، بر روی نمونه‌هایی از سیانوباکتری‌های استیگوناتال و نوستوکال بررسی‌های انجام داده اند. Ahmadi Livani (۲۰۱۱) *Nostoc* sp. FS 101 را در رابطه با شوری نشان ویژه سازی کرده اند ولی سایر عوامل در نظر گرفته نشده است، ضمن اینکه این نمونه‌ها به شالیزارها تعلق داشته است. (Shokravi et *Hapalosiphon* sp. Safaie et *Fischerella* sp. FS 18 al., 2010) و اخیراً (al., 2015) تنها نمونه‌هایی هستند که از مناطق نفتی نشان ویژه‌سازی اکوفیزیولوژیک گردیده‌اند. متتهی چنانکه ذکر گردید، این بررسی در رابطه با نور محدود و تغییرات اسیدیتته و قلیابیت می‌باشند. ضمن اینکه در بررسی Safaie و همکاران (۲۰۱۵) بررسی مورفولوژیک اولویت داشته است. هدف این مطالعه بررسی توان کاهش شوری توسط سیانوباکتری جدا شده از مناطق آلوده نفتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی سیانوباکتری: نمونه خاک از مناطق نفت خیز جنوب کشور جمع‌آوری شد. کشت نمونه‌های خاک مطابق روش کشت سیانوباکتری‌های خاکزی انجام شد (Kaushik, 1987). پس از تشکیل کلونی، جداسازی و کشت‌های بعدی، سیانوباکتریوم *Anabaena* sp. به دلیل بالاتر بودن تعداد کلونی جهت انجام آزمایشات بعدی به صورت خالص تهیه گردید (Kaushik, 1987). شناسایی با استفاده از *Anagnostidis* و Komarek (۱۹۹۰)، Desikachary (۱۹۵۹) و John و همکاران (۲۰۰۲)

که میزان نوری که شالیزار پس از رشد کامل برنج دریافت می‌کند در حدود یک در صد میزان دریافتی قبل از رشد برنج می‌باشد (Valiente and Leganes, 1989). در سیانوباکتری‌ها استراتژی‌های خاصی برای استفاده از نور محدود وجود دارد. وجود دستگاه فیکوبیلی زوم یکی از این استراتژی‌هاست. فیکوبیلی زوم‌ها سیانوباکتری‌ها را قادر می‌سازند که در شرایط کم نوری مانند شالیزارها یا درون خاک‌ها با تنش موجود مقابله نمایند (Soltani et al., 2006).

در ایران بررسی‌های اکوفیزیولوژیک در ارتباط با نور و شوری صورت پذیرفته است (Chakigar et al., 2012; Jafari, 2013)، به‌نشان ویژه سازی مورفولوژیک تحت تاثیر توام شوری و نور محدود در شرایط آزمایشگاهی پرداخته‌اند. در رابطه با مسئله شوری و سیانوباکتری‌های استیگوناتال و نوستوکال، Safaie و همکاران (۲۰۱۲) و Shokravi و همکاران (۲۰۱۰)، از نقطه نظر اکوفیزیولوژیک بررسی‌هایی انجام داده‌اند. از دیگر سیانوباکتری‌های استیگوناتال که به هر حال نه مستقیماً در رابطه با شوری، بلکه از جهات متفاوت و از جمله تغییرات شوری، مورد بررسی قرار گرفته‌اند، می‌توان به بررسی‌های Safaie و همکاران (۲۰۱۲) بر روی *Fischerella* sp. و Soltani و همکاران (۲۰۰۵) بر روی *Fischerella* sp. FS18 اشاره کرد. تاثیر شوری و اسیدیتته بر بقا و رشد گونه‌هایی از *Nostoc* توسط Amirlatifi و همکاران (۲۰۰۸) مورد بررسی قرار گرفته است. در رابطه با نور، تاثیر تناوب‌های نوری بر رشد و فرکانس هتروسیست سیانوباکتریوم *Fischerella* (Vakili et al., 2007)، تاثیر توام نور و دی‌اکسید کربن بر سیانوباکتریوم *Nostoc* sp. (Shokravi et al., 2006) و بررسی منابع نیتروژن و شوری بر روی سیانوباکتریوم متعلق به راسته استیگوناتالزهاپالوسیفون (Shokravi et al., 2010) و بررسی منابع نیتروژن و شوری بر

$$PE = [1000 (A_{562} - A_{750}) - 2.41(PC) - 0.948 (AP)] / 9.62$$

سنجش قندهای محلول: برای این سنجش به ۱۰۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون جلبکی ۱۰ میکرولیتر تولوئن اضافه شد و پس از ورتکس به مدت ۲۴ ساعت در یخچال انکوبه گشت. سپس ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با دور 1500 rpm انجام شد و ۰/۴ میلی لیتر از سوپرناتانت آن برداشته، با آب مقطر به حجم ۲ میلی لیتر رسانیده شد. آن گاه ۵۰ میکرولیتر فنل ۸۰ درصد قطره قطره طی ۳۰ ثانیه افزوده گردید و بعد از آن ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک خالص اضافه شد و پس از ورتکس مجدد ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفته و جذب آن در ۴۸۵ نانومتر خوانده شد (Burns et al., 2005).

سنجش پروتئین‌ها: ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون برداشته و در اپندورف ریخته و ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی دور ریخته و به پلت حاصل ۵۰۰ میکرولیتر گلیسین ۰/۳ مولار اضافه شد. برای لیز شدن سلول‌ها هموژن دستی و سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. محلول رویی که حاوی عصاره پروتئینی است به اپندورف دیگری انتقال یافت و در یخچال نگهداری شده و سپس ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی با آب مقطر به حجم ۱ میلی لیتر همراه با تکان‌های شدید رسانده شد و ۷۰۰ میکرو لیتر از محلول Lowery splution اضافه گشت و این بار به آرامی تکان داده شد و اطراف آن فویل آلومینیومی کشیده شد و ۲۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت.

در ۵ دقیقه آخر انکوباسیون محلول فولین آماده شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر (۰/۱ میلی لیتر) معرف فولین افزوده گردیده و ورتکس شد، و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق انکوبه گردید و پس از گذشت این زمان ورتکس شد و به اندازه ۱/۳ میلی

انجام گرفت. نمونه با کد موزه‌ای *Anabaena* sp. FS 76 کدگذاری و در کلکسیون پژوهشکده علوم پایه کاربردی دانشگاه شهید بهشتی ثبت گردید. کشت ابتدایی در محیط‌های جامد و مایع BG110 در شرایط نوری ۶۰ میکرومول کوانتا بر مترمربع بر ثانیه، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۸ انجام شد.

اعمال تیمار: پس از رشد اولیه سیانوباکتری ایزوله شده، در شرایط نوری محدود معادل ۲ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه و شوری متفاوت شوری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم از محیط کشت فاقد شوری (شاهد) تا شوری ۱ درصد با فاصله ۰/۲۵ درصد از یکدیگر در قرار گرفت. منحنی رشد بر اساس کدورت سنجی و وزن خشک بر اساس (Fernandez-Valiente and Leganes, 1989) ترسیم گردید. نرخ رشد بر اساس Shokravi و Soltani (۲۰۱۱) در فاز تصاعدی رشد محاسبه گردید.

سنجش بیلی پروتئین‌ها: برای اندازه‌گیری میزان فیکوبیلی پروتئین‌های مختلف از روش Bermejo و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد. به این منظور به ۵ میلی لیتر سوسپانسیون جلبکی که محیط کشت آن پس از استفاده از سانتریفوژ ۱۴۰۰۰ دور در ۵ دقیقه جدا شده بود، ۱۵۰ میکرولیتر گلیسرول اضافه شد و در یخچال به مدت یک روز قرار گرفت. پس از آن برای شکسته شدن سلول‌ها به آن آب و استات سدیم ۰/۳ نرمال افزوده شد، این محلول هم به مدت یک روز در تاریکی و سرما قرار داده شد. با استفاده از سانتریفوژ محلول رویی جدا شد و جذب نوری آن در طول موج‌های ۶۱۵، ۶۵۲، ۵۶۲ و ۷۵۰ نانومتر مشخص شد و با استفاده از روابط زیر میزان فیکواریترین، فیکوسیترین، آلفوکیوسیترین و فیکوبیلی پروتئین کل محاسبه شد (میکروگرم بر میلی لیتر):

$$APC = [1000 (A_{652} - A_{750}) - 208 (A_{615} - A_{750})] / 5.09$$

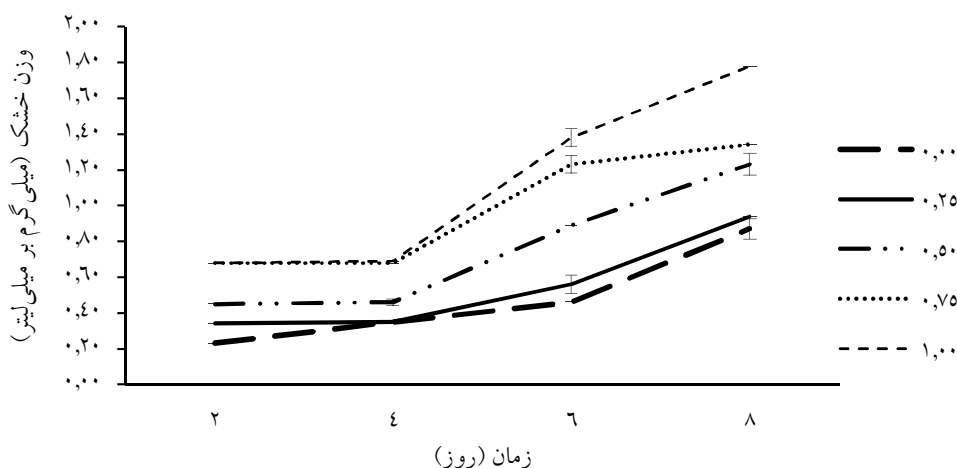
$$PC = [1000 (A_{615} - A_{750}) - 474 (A_{652} - A_{750})] / 5.34$$

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS(ver11)، بر اساس سه تکرار در هر آزمون و آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و طرح Tukey انجام گرفت.

نتایج

نتایج مربوط به رشد سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 نشان می‌دهد که تاثیر توام شوری و نور محدود افراطی، روی هم رفته در روزهای اول تا چهارم رشد سبب بروز فاز تاخیری نمی‌گردد (شکل ۱).

لیتر نمونه را در کووت ریخته و جذب در ۷۵۰ نانومتر با شاهد آب مقطر خوانده شد (Apte and Bhagwat, 1997). طیف جذبی در زیوه با استفاده از اسپکتروفوتومتری مقایسه ای، در طول موج‌های محدوده مرئی (۳۸۰ تا ۷۶۰ نانومتر) با فواصل ده نانومتری انجام گرفت. هردو عصاره متانولی و استنی جهت ارزیابی طیف‌های جذبی مقایسه گردیدند. شدت فتوسنتز و شاخص‌های فتوسنتزی با استفاده از اکسی گراف مدل کلارک سنجیده شد.



شکل ۱: مقایسه وزن خشک سیانوباکتری *Anabaena* sp.FS76 در غلظت‌های مختلف کلرید کلسیم

محیط کشت بدون شوری از روز چهارم آغاز می‌گردد که در هردو مورد با نوسان همراه است. در جدول ۱، مشخصات آنالیز رشد سیانوباکتری تحت تاثیر افزایش شوری تا یک درصد آورده شده است.

به نظر می‌رسد که رشد تا روز چهارم در کلیه تیمارهای شوری به استثنای شوری ۱ درصد به‌طور تقریبی مشابه است. افزایش رشد در تیمار شوری ۱ درصد، و کاهش آن و ورود به فاز ایستایی و مرگ در

جدول ۱: میزان رشد و زمان مضاعت شدن در نمونه سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 تحت شوری‌های متفاوت

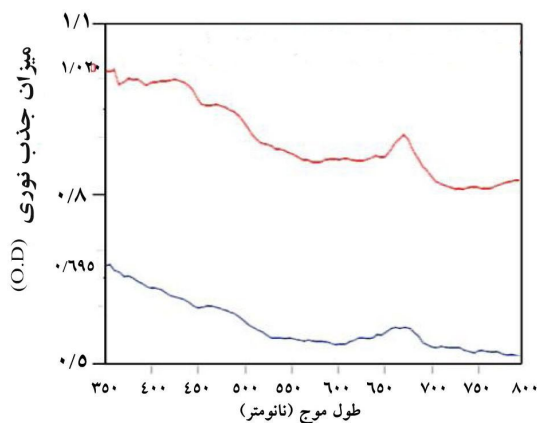
کلرید سدیم (درصد)	ثابت ویژه رشد (μ)	زمان مضاعف شدن (G)
۰	۰/۱۰۴	۱/۰
۰/۲۵	۰/۱۲۱	۵/۷
۰/۵	۰/۳۲۸	۲/۱
۰/۷۵	۰/۳۴۶	۲/۳
۱	۰/۳۸۷	۲/۳

آلوفیکوسیانینی نیز از این روند تبعیت کرد اما میزان افزایش فیکواریترین بخصوص در شوری ۰/۵ درصد به سمت ۱ درصد معنی دار بود.

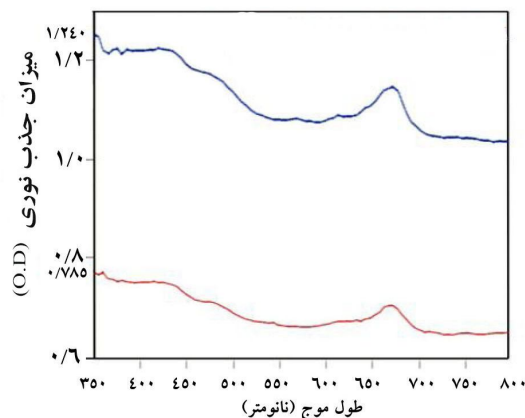
با افزایش شوری افزایش هم در مرکز و هم در بخش‌های میله‌ای و بخصوص خارجی‌ترین بخش‌های میله‌ای یعنی فیکواریترین‌ها به‌طور معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۲)، محتوای فیکوسیانینی و

جدول ۲: مقادیر فیکوبیلی پروتئین‌ها (میکروگرم میلی‌گرم در وزن خشک) در سیانوباکتریوم *Anabaena sp.FS76* در تیمارهای مختلف شوری (درصد)

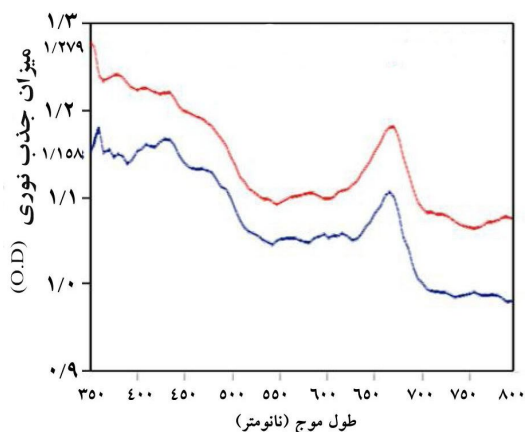
کلرید سدیم	۰	۰/۲۵	۰/۵	۰/۷۵	۱
آلوفیکوسیانین	۲۲/۲۹±۰/۲۷ ^d	۳۴/۹۹±۰/۲۲ ^c	۳۹/۷۵±۰/۰۹ ^b	۳۹/۸۷±۰/۵۱ ^b	۴۴/۳۳±۰/۰۸ ^a
فیکوسیانین	۱۸/۱۰±۰/۵۶ ^e	۲۴/۷۰±۰/۱۷ ^d	۲۷/۳۳±۰/۱۰ ^c	۲۸/۳۹±۰/۱۲ ^b	۳۱/۲۷±۰/۰۶ ^a
فیکواریترین	۳۶/۱۴±۰/۱۵ ^e	۳۸/۷۲±۰/۲۳ ^d	۳۹/۰۴±۰/۴۰ ^c	۱۱۶/۱۷±۰/۲۷ ^b	۱۲۱/۵۲±۰/۱۴ ^a
کل فیکوبیلی پروتئین‌ها	۷۶/۵۳±۰/۳۲ ^e	۹۸/۴۱±۰/۳۷ ^d	۱۰۶/۱۲±۰/۵۱ ^c	۱۸۷/۴۳±۰/۰۶ ^b	۱۹۷/۱۲±۰/۱۶ ^a



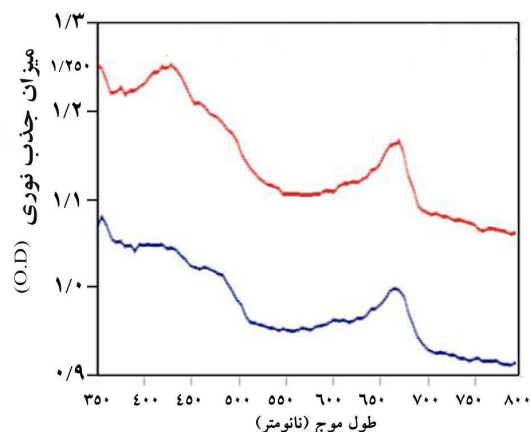
الف



ب



ج



د

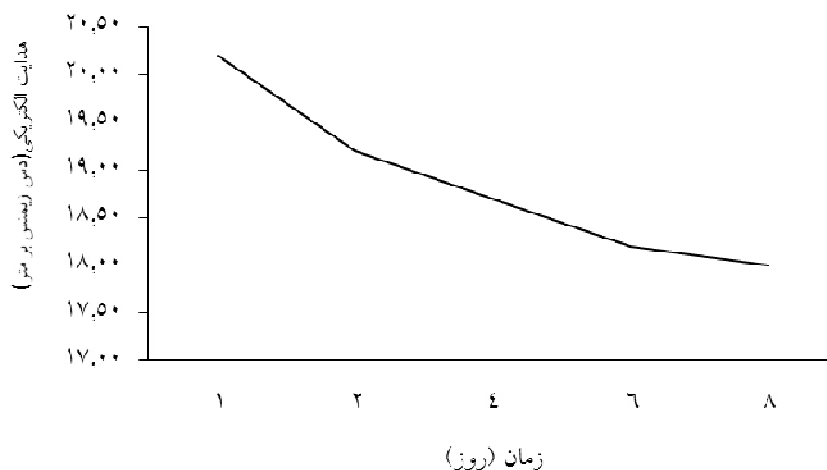
شکل ۲: منحنی مقایسه‌ای در زیوه رنگی‌های فیکوبیلی پروتئین سیانوباکتریوم *Anabaena sp. FS 76* به تفکیک تیمارنوری در روز اول (آبی) و روز ششم (قرمز) (الف) ۲ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه، (ب) ۱۰ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه، (ج) ۵۰ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه، (د) ۱۰۰ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه در تیمار غلظت ۱ درصد دی اکسید کربن و ۱ درصد شوری.

کاهش هدایت الکتریکی در شرایط آزمایشگاهی، از روز نخست پس از تلقیح آغاز می گردد. با وجود آنکه نوسانات هدایت الکتریکی در تیمار شاهد (شوری ۰ درصد) کاهش نشان داد اما این اختلاف در ابتدای تلقیح سیانوباکتری و در انتهای روز ششم از نظر آماری معنی دار نیست (جدول ۳، شکل ۴). اما در انتهای روز ششم، سیانوباکتری قادر است در شوری یک درصد مقادیر هدایت الکتریکی را به میزان معنی داری کاهش دهد و این قابل توجه است. این مسئله در مورد غلظت های از نیم درصد به بالا مشابه است. مقادیر هدایت الکتریکی نمونه همراه با افزایش فعالیت دستگاه فتوسنتزی و سرعت گیری رشد تصاعدی آن کاهش می یابد (جدول ۳، شکل ۱ و ۳).

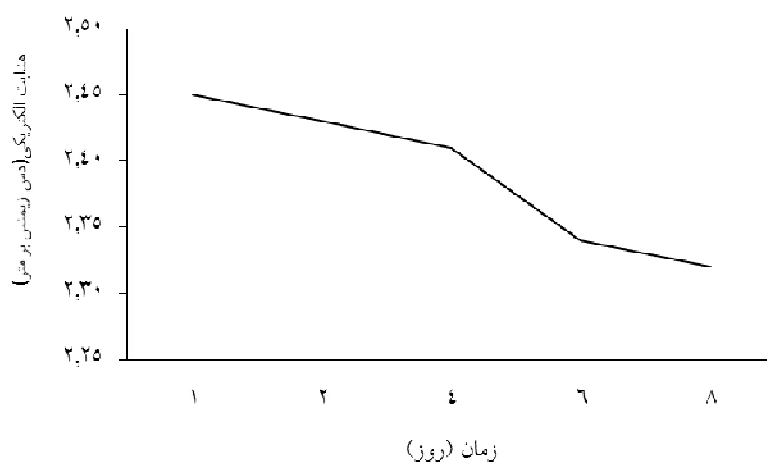
در شکل ۲، وضعیت رنگیزه ای در شرایط متفاوت نوری، غلظت ۱ درصد دی اکسید کربن و شوری یک درصد آورده شده است. همان طور که مشاهده می گردد با افزایش میزان شدت نوری طیف جذبی در طول موج های مربوط به فیکوسیانین و فیکواریترین برهم منطبق می باشند که نشان از همسان بودن فعالیت دستگاه فتوسنتزی دارد. روی هم رفته به نظر می رسد که سیستم فتوسنتزی نمونه حداقل از نظر دستگاه فیکوبیلی زومی و رنگیزه های بخش گیرنده نوری، در شرایط ۱۰۰ میکرو کوانتا بر مترمربع در ثانیه نه تنها عملکرد خود را کاهش نمی دهد بلکه کارایی خود را حفظ می کند.

جدول ۳: مقایسه مقادیر هدایت الکتریکی (دس زیمنس بر متر) در سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 در دو تیمار شوری (۰ درصد و ۱ درصد) در روز اول و ششم.

کلرید سدیم	۰	۱
هدایت الکتریکی روز اول	۲/۴۴±۰/۱۵ ^a	۲۰/۱±۰/۵۲ ^a
هدایت الکتریکی روز ششم	۲/۳۲±۰/۲۲ ^a	۱۵/۳۶±۰/۳۵ ^b



شکل ۳: منحنی نوسانات هدایت الکتریکی سیانوباکتریوم *Anabaena* sp.FS76 در شوری ۱ درصد



شکل ۴: منحنی نوسانات هدایت الکتریکی سیانوباکتریوم *Anabaena sp.* FS76 در شوری ۰ درصد

مقابله با شوری در سیانوباکتری‌های نوستوکال و استیگنونماتال، افزایش معنی دار محتوای پروتئین (ANOVA, $p < 0.05$) در شوری ۱ درصد، ناشی از توان نمونه در تعدیل شوری به صورت پایدار می‌باشد.

دقت در جدول‌های ۴ و ۵ نشان می‌دهد که محدودیت نوری (۲ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه) و شوری نه تنها سبب کاهش تولید قند و پروتئین نگردیده است، بلکه بر میزان آن افزوده است. با توجه به تاثیر محتوای قند و پروتئین (کل) بر فرایندهای

جدول ۴: مقدار پروتئین و قند (میکروگرم در گرم وزن خشک) در تیمار ۲ میکروکوانتا بر مترمربع در ثانیه، غلظت ۱ درصد دی‌اکسید کربن و شوری ۰ درصد در سیانوباکتریوم *Anabaena sp.* FS76

روز	پروتئین (میکروگرم در گرم وزن خشک)	قند (میکروگرم در گرم وزن خشک)
۱	۵/۶۸±۱/۵۹ ^h	۲/۰۰±۰/۶۸ ^h
۲	۶/۲۲±۰/۸۰ ^g	۲/۲۱±۰/۱۵ ^g
۳	۶/۳۶±۱/۰۰ ^f	۲/۲۶±۰/۵۹ ^f
۴	۶/۷۳±۰/۴۸ ^e	۲/۴۰±۰/۱۷ ^e
۵	۶/۸۵±۱/۱۳ ^{de}	۳/۶۷±۰/۴۵ ^d
۶	۶/۸۶±۱/۱۸ ^d	۳/۸۹±۰/۸۹ ^c
۷	۶/۹۸±۰/۷۰ ^c	۴/۱۲±۰/۲۲ ^b
۸	۷/۶۴±۰/۱۲ ^b	۴/۱۳±۰/۱۱ ^b
۹	۷/۸۷±۰/۳۲ ^a	۴/۵۰±۰/۵۰ ^a

جدول ۵: مقدار پروتئین و قند (میکروگرم در گرم وزن خشک) در تیمار ۲ میکرو کوانتا بر مترمربع در ثانیه، غلظت ۱ درصد دی اکسید کربن و شوری ۱ درصد در سیانوباکتریوم *Anabaena sp. FS76*

روز	پروتئین (میکروگرم در گرم وزن خشک)	قند (میکروگرم در گرم وزن خشک)
۱	۷/۰۶±۱/۱۱	۱/۷۷±۰/۵۷ ^h
۲	۷/۳۴±۱/۰۹ ^h	۱/۷۹±۰/۲۵ ^h
۳	۸/۶۷±۰/۵۹ ^g	۱/۹۸±۰/۴۵ ^g
۴	۱۰/۱۲±۰/۲۸ ^f	۲/۰۱±۰/۵۷ ^f
۵	۱۲/۴۵±۰/۸۴ ^e	۳/۶۷±۱/۰۱ ^e
۶	۱۴/۵۶±۰/۹۹ ^d	۴/۵۶±۱/۱۸ ^d
۷	۱۶/۵۷±۰/۴۹ ^c	۶/۶۵±۰/۸۸ ^c
۸	۱۸/۶۸±۰/۶۸ ^b	۶/۷۰±۰/۴۷ ^b
۹	۱۹/۲۳±۰/۶۶ ^a	۷/۵۷±۰/۷۲ ^a

بحث

آن است که در شرایط نوری بسیار محدود که در پشته‌های میکروبی در زیستگاه‌هایی نظیر شالیزار و مناطق آلوده به نفت عمومیت دارد، سیانوباکتری نه تنها قادر است فتوسنتز خود را در تیمار دوگانه شوری و نور محدود تنظیم نماید، بلکه می‌تواند از نظر محتوا به طور نسبی ثبات آن را حفظ کند ثبات نسبی بخصوص در بخش فیکوسیانینی قابل توجه است. هرچند به‌طور بدیهی با تغییر نور، محتوای سیستم فیکوبیلی زوم تغییر می‌کند اما در بخش مورد نظر ما یعنی نور محدود، بخش فیکوسیانین از ثبات برخوردار است (شکل ۲).

الگوی رشد این سیانوباکتری با دیگر سیانوباکتری‌های جمع‌آوری شده از منطقه خارک که تا کنون از نظر رشد نشان ویژه سازی شده اند شباهت‌ها و تفاوت‌هایی دارد (Soltani et al., 2012; Safaie et al., 2015). این سیانوباکتری از روز نخست بدون فاز تاخیری رشد را آغاز می‌کند و این رشد تا روز هفتم پس از تلقیح بدون دشواری ادامه می‌یابد. در تمامی شوری‌های اعمال شده در شرایط نور محدود افراطی، فاز رشد منفی وجود ندارد. از این نظر نتایج با آنچه در مورد *Hapalosiphon sp. FS 56* جمع

این نخستین گزارشی است که به نشان ویژه سازی سیانوباکتری *Anabaena sp. FS 76* در ارتباط با شوری می‌پردازد. بررسی‌های مقدماتی رشد در شرایط فاقد شوری نشان داد که رشد در شرایط قلیایی، به مراتب بهتر از شرایط اسیدی می‌باشد. به همین دلیل شرایط قلیایی برای کشت نمونه و بررسی شوری انتخاب گردیده است (Badeli et al., 2012).

استفاده از بازدارنده‌های تراکم دی اکسید کربن در جلبک‌ها که در Amirlatifi و همکاران (۲۰۰۸) و Abbasi و همکاران (۲۰۱۲)، استفاده گردید نشان داد که میزان ۱ درصد دی اکسید کربن رشد و توده سلولی را افزایش می‌دهد ولی عدم تلقیح آن هم مانع رشد نمی‌گردد. مگر آنکه شوری بر روی مکانیسم تراکمی تاثیر داشته باشد.

تحقیقات نشان داده است که عوامل محیطی از جمله نور و دی اکسید کربن، می‌توانند تا حدی الگوهای ساخت و مهندسی بخش‌های فیکوبیلی زومی را تغییر دهند. بنابراین در رابطه با تاثیر شوری حکم کلی نمی‌توان کرد و می‌بایست سایر عوامل را نیز در نظر گرفت. اما آنچه در شکل ۱، اهمیت دارد

این حال بررسی‌های ایرانشاهی و همکاران نشان می‌دهد که *Microchaete* sp. FS 13 در حد شوری بالاتر از دو درصد دچار تنش شوری می‌شود و در حد ۵ درصد، رشد آن نسبت به درصد کاهش چشمگیر می‌یابد. به نظر می‌رسد که *Anabaena* sp. FS76، همانند *Nostoc* sp. FS 77 نسبت به شوری تا حد یک درصد واکنش مثبت نشان می‌دهد. بهتر است گفته شود این شوری برای نمونه بهینه می‌باشد.

جهت ارزیابی کیفی تغییرات، استفاده از طیف‌های جذبی در زیوه به عنوان ابزاری کارآمد جهت ارزیابی تاثیر عوامل مختلف بر رنگیزه‌های فتوسنتزی به کار رفته است. در بررسی‌های گذشته و از جمله

Chakigar و همکاران (۲۰۱۲) و Safaei و همکاران (۲۰۱۲)، اشاره شده که به‌طور دقیق نمی‌توان ذکر کرد که آیا الگوی رنگیزه‌های فتوسنتزی، ناشی از تاثیر شوری بر نور محدود است و یا اینکه این دو فرایند به‌طور مستقل عمل می‌کنند. هرچند اشاره گردیده که روی هم رفته احتمال نخست باید منطقی‌تر به نظر برسد اما تاکید شده که وضعیت رنگیزه‌ای نمونه در شوری ۰ درصد (محیط کشت فاقد کلرید سدیم)، قدری این فرض را مخدوش می‌کند. ضمن اینکه نتایج بررسی‌ها در شرایط *in vitro* نشان می‌دهد که محتوای رنگیزه ای (به‌طور کلی) در شرایط شوری صفر درصد به حداقل خود می‌رسد. با توجه به اینکه در نور محدود، می‌بایست این رنگیزه‌ها بیشترین مقدار را داشته باشند، کاهش این میزان در *Microchaete* sp. FS 13 می‌تواند در وهله اول عجیب باشد، اما هنگامی که نرخ‌های رشد را مقایسه می‌کنیم، در می‌یابیم که رشد نمونه در حضور کلرید سدیم تحریک می‌شود و این تحریک رشد البته می‌تواند ناشی از افزایش کمیت رنگیزه‌های فتوسنتزی باشد (Chakigar et al., 2012).

آوری شده از خاک‌های شمال ایران و نگهداری شده در شرایط مشابه نوری (۲ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه) بدست آمد (Shokravi et al., 2010) مشابه می‌باشد. ورود موقت به فاز رشد منفی که از روز دوم در شرایط شوری ۱٪ ایجاد می‌شود با قابلیت بازیابی رشد در روزهای بعد همراه است و نمی‌توان آن را تنش تاثیر گذاری دانست چون نرخ رشد در این شرایط شوری نسبت به دیگر شرایط بالاتر می‌باشد. در بررسی‌های Ahmadi Livani (۲۰۱۱)، سیانوباکتری‌های استیگوناتال شمال کشور بخصوص گونه‌های هاپالوسیفون، به شوری حساس تشخیص داده شده اند و قابلیت بقای آن‌ها در شوری بالاتر از ۱٪ از دست رفته است و در این میزان شوری نیز به سختی بقای خود را حفظ کرده اند. در بررسی‌هایی که بر روی *Fischerella* sp. FS 18 صورت گرفت مشخص شد این سیانوباکتری نیز حداکثر رشد خود را در ۵/۰ درصد دارا بوده و در شوری ۱ درصد رشد آن به‌طور معنی دار کاهش می‌یابد (Soltani et al., 2008). در بررسی‌های Shokravi و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گونه‌هایی از نوستوک، شرایط مطلوب شوری در حد ۵/۰ درصد ارزیابی شده و شوری بالاتر سبب کاهش معنی دار نرخ رشد گردیده است. در خصوص *Microchaete* sp. FS 13، نوع رفتار متفاوت است. همه شوری‌ها تا روز سوم سبب رشد یکسان می‌شوند و فاز تصاعدی از روز نخست پس از تلقیح آغاز می‌گردد که نشان‌دهنده سازگاری سریع نمونه با شوری‌های مختلف می‌باشد. شوری ۱٪ بعد از روز پنجم مجدد فاز تصاعدی آغاز می‌کند ولی محیط فاقد شوری، از روز چهارم به بعد وارد فاز مرگ می‌شود که نشان دهنده عدم تمایل نمونه به این شرایط (محیط بدون شوری) می‌باشد (Chakigar et al., 2012). تا کنون در خصوص رفتارهای این سویه در شوری‌های بالاتر از ۱ درصد، گزارشی منتشر نشده است. با

افزایش ترکیبات تولید کننده پوشش های سلولی، سبب بالا رفتن توان فتوسنتزی *Microcoleus vaginatus* در تنش های شوری، چه هتروتروفی و چه اتوتروف بخصوص در نورهای پایین می گردد که از این نظر شاید بتوان وجود امینواسیدهای شبه مایکوسپورین و تغییرات تولید در محدوده پوشش سلولی را در *Anabaena sp.* FS 76 توجیه کرد.

در بررسی های Pakzad و همکاران (۲۰۱۱) پوشش های سلولی در اطراف سیانوباکتری نشان داده شده است. بررسی های فراساختاری در *kiaei* و همکاران (۲۰۱۴) و Safaie و همکاران (۲۰۱۰)، وجود پوشش های سلولی را در اطراف ریشه نشان می دهد.

تولید پروتئین و قند در این سیانوباکتری تحت تاثیر شوری افزایش می یابد. در عین حال این سیانوباکتری توانایی این را دارد که حداقل در کوتاه مدت و در شرایط آزمایشگاهی شوری را کاهش دهد. این توانایی بخصوص در شوری ۱٪ مشاهده می گردد که نمونه از نظر کارایی سیستم فتوسنتزی در بهینه شرایط خود قرار دارد.

محتوای قند و بخصوص پروتئین در اعمال شوری ۱ به ۰/۲۷ میلی گرم در میلی لیتر می رسد که در مقایسه با دیگر سیانوباکتری های نوستوکال که در شرایط طبیعی بررسی شده اند، قابل توجه می باشد. تولید پروتئین و قند در شرایط متعارف (۰/۵ درصد) در محدودیت افراطی نور، تقریبا معادل مقداری است که در بررسی بر روی گونه های نوستوک و آنابنای جمع آوری شده از شالیزارهای شمال کشور و ارزیابی در نور متعارف بدست آمده است (Soltani et al., 2005).

نکته با اهمیت در اینجا افزایش معنی دار قند و پروتئین در این سیانوباکتری تحت تاثیر افزایش شوری است. در بررسی های Apte و Bhagwat

طیف های جذبی در زیوه در روزهای نخست پس از تلقیح و مقایسه آن با روزهای بعد از تلقیح در شوری های مختلف نشان از تاثیر عاملی به نام نور و دی اکسید کربن در رفتارهای سیستم فیکوبیلی زومی نمونه در شرایط یکسان شوری دارند. به نظر می رسد که افزایش شدت نور، تاثیر تیمارهای دی اکسید کربن و شوری را تغییر می دهد. هنگامی که شدت نور کاهش می یابد، رنگیزه ها در شرایط شوری و دی اکسید کربن، رفتارهایی کاملا متمایز نشان می دهند. به نظر می رسد که رفتارهای شوری در خصوص تاثیر بر رنگیزه های فتوسنتزی به شدت نور وابسته است ولی این بدان معنی نیست که محتوای این رنگیزه ها افزایش یا کاهش معنی دار پیدا می کند. وجود اسید آمینه مایکوسپورین مانند MAA، در شرایط نوری محدود جالب توجه است. در این سیانوباکتری در شرایط محدودیت نور در حد ۲ میکرومول کوانتا بر متر مربع در ثانیه، نمونه توانسته در محدوده ۳۸۰-۴۰۰ جذب قابل توجهی نشان دهد که ناشی از بیان اسیدهای آمینه مایکوسپورین مانند است (Sasani, 2010). با توجه به اینکه اسیدهای آمینه شبه مایکوسپورین در رابطه با تاثیر بر پرتو فرابنفش حائز اهمیت شناخته شده اند، فلسفه شکل گیری آن در پوشش های سلولی قابل درک نیست. بی تردید علاوه بر نقش در تنش های فرابنفش می بایست این ترکیبات نقش های دیگری هم بر عهده داشته باشند. این نقش هرچه باشد می بایست به شدت های نوری پایین محدود باشد چون در شدت های نوری بالاتر، تولید آنها متوقف می شود. در این رابطه تنها می توان، به بررسی Lanzhou و همکاران (۲۰۰۳)، اشاره کرد. در این بررسی نظریه استفاده از آگزوپلی ساکاریدهای دیواره ای به عنوان عامل تعدیل کننده سیستم فتوسنتزی در تنش های شوری، بخصوص از نظر تولید منابع کربنه پیشنهاد گردیده است. افزایش ساکارز و

امکان تغییر شرایط محیطی و از جمله شرایط نوری در زمان‌های کوتاه وجود دارد. این سیانوباکتری قادر به تعدیل شوری است و این یک امتیاز مهم از نظر بیوتکنولوژی محسوب می‌شود. هنوز نمی‌توان گفت که این تعدیل به طور موقت انجام می‌گیرد و یا دائم. برای هر دو فرضیه‌هایی وجود دارد. اگر فرضیه دوم در بررسی‌های بعدی اثبات شود، می‌توان از این سیانوباکتری جهت پروژه‌های مربوط به کاهش شوری به صورت بیولوژیک که یک نیاز مبرم فعلی زیست محیطی است استفاده نمود.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از سرکار خانم دکتر ندا سلطانی و جناب آقای دکتر مازیار احمدی گلسفیدی به سبب همکاری خالصانه در مدت انجام مراحل آزمایشگاهی، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

References

- Abbasi, B., Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2012).** Studying of viability, growth and pigment composition and ammonium of *Anabaena* sp. Fs76 in different organic and inorganic nitrogen medium. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.
- Ahmadi Livani, H. (2011).** Studying of survival and growth soil cyanobacterium to salt stress, carbon dioxide and pH. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.
- Amirlatifi, F., Shokrav, Sh., Safaie, M. and Hosseini Kolbadi, Z. (2008).** Studying of survival and growth cyanobacterium *Nostoc* sp. in pH stress and limited carbon dioxide. Journal of Plant Science Research. 6:38-45.
- Amirlatifi, H., Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2012).** Studying of acclimation of soil cyanobacterium *Anabaena* sp. FS 76 to combination effect of pH and carbon dioxide at extremely limited irradiance. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.
- Anagnostidis, K. and Komarek, J. (1990)** Modern approaches to the classification of cyanobacteria. Stigonematales. Archives for Hydrobiology. 14:224-286.

(۱۹۹۷)، سیانوباکتری *Anabaena torulosa* نشان داده شده است که تعدیل شوری با تلقیح این سیانوباکتری در زمان رشد گیاهان زراعی، می‌تواند ایده جالب توجهی باشد. کاهش شوری بین ۲۵ تا ۳۸ درصد گزارش شده است اما تعدیل شوری قابل توجه در این حد، به طور عمده مربوط به شوری موقت می‌باشد. این تعدیل موقت ممکن است تا ۹۰ درصد را هم شامل شود. *Anabaena torulosa*، در بررسی‌های فوق توانسته است در شوری متوسط (هدایت الکتریکی بین ۵ تا ۸/۵ دسی‌زیمنس بر متر) به خوبی رشد کند و در عین حال عمل تثبیت نیتروژن را در سطح بالا انجام دهد. در این سیانوباکتری، بررسی‌های قند و پروتئین نشان از افزایش معنی‌دار نداشته است. بنابراین نمی‌توان تعدیل شوری را در این سیانوباکتری دائم دانست. در بررسی‌های Chakigar و همکاران (۲۰۱۲) و Badeli و همکاران (۲۰۱۲) این روند منظم مشاهده نگردیده است.

نتیجه‌گیری نهایی

به نظر می‌رسد که *Anabaena* sp.FS 76 در شرایطی افراطی محیط آزمایشگاه یعنی شدت نوری بسیار محدود و شوری در حد ۱٪ کلرید سدیم، دارای رشد بهینه و کارایی فتوسنتزی بالا می‌باشد. رنگیزه‌های فتوسنتزی بخصوص سیستم فیکوبیلی زومی در این شرایط، هم وجود و هم کارایی خود را حفظ می‌کنند. با توجه به این مسئله و به دلیل معطل شوری در مناطق نفتی و ضرورت بکارگیری سیستم‌های زیستی تعدیل کننده شوری، می‌توان روی این نمونه به صورت جدی متمرکز شد. شوک‌های شوری سبب تغییر سریع در سیستم رنگیزه ای و بخصوص بخش‌های مرکزی و میله ای فیکوبیلی زوم می‌شود که ظاهراً واکنش به تغییرات نوری در شرایطی است که نمونه با آلودگی نفتی درگیر است و

- Anand, N., Radha, L., Shanthakumar, R., Hopper, S., Revathi, G. and Subramanian, TD. (1990).** Blue-green algae as biofertilizers: certain view points on the choice of suitable isolates. In *Perspective in phycology*, ed. Rajarao, V.N. pp. 383-391. New Delhi: Today and Tomorrow's Printer and Publisher.
- Apte, S.K. and Bhagwat, A.A. (1997).** Salinity-stress-induced proteins in two nitrogen-fixing *Anabaena* strains differently tolerant to salt. *Journal of Bacteriology*. 171:909-915.
- Badeli, Z., Derakhshanpour, J. and Shokravi, Sh. (2012).** Studying the effect of salinity and limited irradiance in survival and growth of soil cyanobacterium *Anabaena* sp. FS 76 and *Nostoc* sp. FS 77. M.Sc Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Tonekabon .
- Bermejo, R.N.R., Alva´rez-Pez, J.M., Acie´n Ferna´ndez, F.G. and Molina Grima, E. (2002).** Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridum Cruentum*. *Journal of Biotechnology*. 93: 73-85.
- Boussiba, S. (1988).** *Anabaena azollae* as biofertilizer. In: *Algal biotechnology*, eds, Stadler, T.,J., Millon, M.C. Verdus, Y.Karamanos, H.Morvan and D.Christiaen, Elsevier Applied Science.
- Burns R., Danielle, J., MacDonald, C., Mc Ginn, J.P., and Campbell, D.A. (2005).** Inorganic carbon repletion disrupts photosynthetic acclimation low temperature in the cyanobacteria *Synechococcus elongatus*. *Journal Phycology*. 41: 322-334.
- Chakigar, Sh., Shokravi, Sh. and Sateii, A. (2012).** Study aclimation of the soil cyanobacteria *Microchaete* sp.FS13 to salt stress and salinity ammelioration potentiality at the laboratory condition MS.c Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.
- Desikachary, T. V. (1959).** Cyanophyta. Indian council of agricultural research, monographs on Algae New Delhi, India.
- Jafari, A. (2013).** Study morphological variation patterns soil cyanobacteria in ph stress and study the effect of morphological fluidity as acidity and alkalinity adjustment strategy. MS.c Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.
- John, D.M., Whitton, B.W., Brook, A.J. (2002)** The Freshwater Algal Flora of The British Isles -Cambridge University Press.
- Kaushik, B. D. (1987).** Laboratory methods for blue-green algae. Associated Publishing Company.
- Kiaei, E., Soltani, N., Mazaheri assadi, M., Khavari nejad, R.A. and Dezfulian, M. (2014).** Evaluation of the effect of environmental factors on cyanobacteria with ability of biodiesel production . Ph.D Thesis of Microbiology.
- Lanzhou, C., Dunhai, L. and Yongding, L. (2003).** Salt tolerance of *Microcoleus vaginatus* Gom., a cyanobacterium isolated from desert algal crust, was enhanced by exogenous carbohydrates. *Journal of Arid Environments*. 55(4): 645-656.
- Pakzad, A., Masoudian, N., Shokravi, Sh., Amirlatifi, H. and Abbasi, B. (2011).** Analysis of morphological and ultrastructure variation patterns in two previously unexplored strains of nostocaceae collected from paddy fields of Gorgan (Golestan Province). *Environmental Sciences the First National Conference of Phycology of Iran*. 9: 73-83.
- Safaei, M., Shokravi, Sh., Amirlatifi, F. and Hoseinii kolbadi, Z. (2012).** cyanobacterium *Fischerella* sp. in Different salinities. *Quarterly Journal of Plant Science Researches*. 4:72-78.
- Safae Katoli, M., Nejad-Sattari, T., Majd, A. and Shokravi, Sh. (2015).** Physiological, morphological and ultrastructural responses of cyanobacterium *Fischerella* sp. FS 18 to combination effects of extreme conditions. *Journal Apply Environment Biology Science*. 5(1):135-149.
- Sasani, Z. (2010).** Acclimation possibility of micro algae as a biological shield in agriculture to carbon dioxide extreme situations caused by possible attacks. MS.c Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.
- Shokravi, Sh. and Soltani, N. (2011).** Acclimation of the *Haplosiphon* sp. FS 56 (cyanoprokaryota) to combination effects of dissolved inorganic carbon and pH at extremely limited irradiance. *International journal on Algae*. 13 (4): 379-391.
- Shokravi, Sh., Amirlatifi, F., Safaie, M., Ghasemi, Y. and Soltani, N. (2006).** Some physiological responses of *Nostoc* sp. JAH 109 to the combination effects of limited irradiance, pH and DIC availability. *Quarterly Journal on Plant Science Researches*. 1(3):55-63.
- Shokravi, Sh., Safaie, M. and Jorjani, S. (2010).** Studying of acclimation of the cyanobacterium *Haplosiphon* sp. FS 44 to the combination Effects of pH and carbon dioxide concentration. *Quarterly Journal on Plant Science Researches*. 5(3): 31-42.

- Shokravi, Sh., Soltani, N. and Baftehchi, L. (2009).** Cyanobacteriology. Islamic Azad University. First express.
- Soltani N., Khavarinejad, R.A., TabatabaeiYazdi, M. and Shokravi, Sh. (2007).** Growth and metabolic Feature of cyanobacteria *Fischerella* sp. FS18 in different Combined nitrogen sources. Iranian Journal of Science. 18(2): 123-128.
- Soltani N., Zarrini G., Ghasemi, Y., Shokravi, Sh. and Baftechi, L. (2008).** Characterization of soil cyanobacterium *Fischerella* sp. FS18 under NaCl stress Journal of Biological Sciences.7(6): 931-936.
- Soltani, N., Khavari-Nejad, R., Tabatabaie, M., Shokravi, Sh. and Fernandez Valiente, E.F. (2006).** Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacteria *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. World Journal Microbiology Biotechnology. 22 (6): 571-577.
- Soltani, N., Baftechi, L., Dezfulian, M., Shokravi, Sh. and Alnajjar, N. (2012).** Molecular and Morphological Characterization of Oil Polluted Microalgae. International Journal of Environmental Research. 6(2): 481-492.
- Soltani, N., Khavari-Nejad, R.A., Tabatabaei Yazdi, M., Shokravi, Sh. and Fernández-Valiente, E. (2005).** Physiological and antimicrobial characterizations of some cyanobacteria in extreme environments. Ph.D Thesis On plant Physiology.
- Soltani, N., Siahbalaie, R. and Shokravi, Sh. (2011).** Taxonomical characterization of *Fischerella* sp. FS18- A multidisciplinary approach International journal on Algae. 1(9): 48-55.
- Stal, L. (1995).** Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities. -New Phytology. 131: 1-32.
- Vakili, F., Ghorchibeigi, K., Soltani, N. and Shokravi, Sh. (2007).** The effect of continuous illumination and photoperiods on growth and heterocyst frequency of cyanobacterium *Fischerella ambigua* from Golestan province. Quarterly Journal of Plant Science Researches. 1(2):11-20.